

L3 ANSWER 20 OF 44 CAPLUS COPYRIGHT 2004 ACS on STN

AN 1992:46319 CAPLUS

DN 116:46319

TI Anti-inflammatory, gastric juice-secretion inhibitors, and active oxygen-formation inhibitors containing D-cysteinolic acid derivatives

IN Mimura, Tsutomu; Kohama, Yasuhiro

PA Green Cross Corp., Japan

SO Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 7 pp.

CODEN: JKXXAF

DT Patent

LA Japanese

FAN.CNT 1

	PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
PI	JP 03118319	A2	19910520	JP 1989-256539	19890930
PRAI	JP 1989-256539		19890930		
OS	MARPAT 116:46319				
AB	Anti-inflammatory, gastric juice-secretion inhibitors, and active oxygen-formation inhibitors contain R1CH2CHR3NHR2 (I) (R1 = SH, SO3H, SSCH2CHR3NH2; R2 = H, CH3; R3 = H, alkyl, hydroxyalkyl, carboxyl) and II (R3 = same as above) or their salts as active ingredients. Bis[(R)-2-aminopropyl] disulfide (III) was both in vivo and in vitro tested for the above activities. III 50, lactose 935, and Mg stearate 15 g were mixed and encapsulated to give capsules (200 mg).				

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

平3-118319

⑤ Int. Cl. 5

A 61 K 31/13  
31/425  
// C 07 D 277/04  
277/06

識別記号

ABE  
ACL  
ADD  
AGZ

庁内整理番号

7252-4C  
7475-4C  
7431-4C  
7431-4C

⑬ 公開 平成3年(1991)5月20日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全7頁)

⑭ 発明の名称 抗炎症剤、胃液分泌抑制剤または活性酸素産生抑制剤

⑬ 特願 平1-256539

⑭ 出願 平1(1989)9月30日

⑮ 発明者 三 村 務 大阪府池田市石橋3丁目11-3-105

⑯ 発明者 小 濱 靖 弘 大阪府吹田市古江台2丁目13-3

⑰ 出願人 株式会社ミドリ十字 大阪府大阪市中央区今橋1丁目3番3号

⑲ 代理人 弁理士 高島 一

明細書

る抗炎症剤、胃液分泌抑制剤または活性酸素産生

1. 発明の名称

抑制剤。

抗炎症剤、胃液分泌抑制剤または活性酸素産生  
抑制剤

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、優れた抗炎症剤、胃液分泌抑制剤お  
よび活性酸素産生抑制剤に関する。

(従来技術・発明が解決しようとする課題)

海洋生物の医薬品資源としての活用研究の一環  
として魚介類由来のD-システノール酸(Cys-OH)に  
血小板凝集抑制作用を認めている。

本発明は、Cys-OHをリード化合物とした関連化  
合物の新規用途を提供することを目的とする。

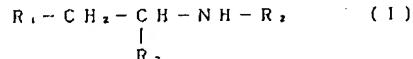
(課題を解決するための手段)

本発明者らは、当該化合物について、構造活性  
相関、薬理活性およびその操作について検討を重  
ねてきたところ、下記化合物(I)が優れた抗炎  
症作用、胃液分泌抑制作用および活性酸素産生抑  
制作用を有することを見出し、本発明を完成した。

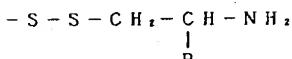
即ち、本発明の抗炎症剤、胃液分泌抑制剤また  
は活性酸素産生抑制剤の有効成分は一般式

2. 特許請求の範囲

一般式



(式中、R<sub>1</sub>はメルカブト、スルホまたは式

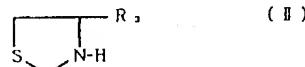


|

R<sub>2</sub>

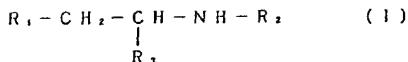
で表わされる基を、R<sub>2</sub>は水素原子またはメチル  
を示し、またR<sub>1</sub>とR<sub>2</sub>とが結合して、一般式

(I)で表わされる化合物が

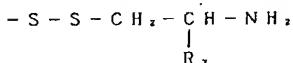


で表わされる環状化合物を形成してもよく、R<sub>2</sub>  
は水素原子、アルキル、ヒドロキシアルキルまたは  
カルボキシルを示す)

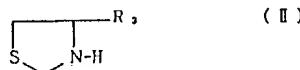
で表わされる化合物またはその塩を有効成分とす



(式中、R<sub>1</sub> はメルカブト、スルホまたは式



で表わされる基を、R<sub>2</sub> は水素原子またはメチルを示し、またR<sub>1</sub> とR<sub>2</sub> とが結合して、一般式(I) で表わされる化合物が



で表わされる環状化合物を形成してもよく、R<sub>2</sub> は水素原子、アルキル、ヒドロキシアルキルまたはカルボキシルを示す。)

で表わされる化合物〔以下、化合物(I) という〕またはその塩である。

本明細書において、アルキル(ヒドロキシアルキルにおけるアルキルも含む) は直鎖または分枝鎖状の何れでもよく、好ましくはC<sub>1-4</sub> の低級アルキルである。具体的にはメチル、エチル、プロピル、ブチル等が例示され、特に好ましくはメチ

ルである。

なお、R<sub>1</sub> とR<sub>2</sub> とが結合した場合の式(II) で表わされる環状化合物は、それ自体が化合物(I) に相当するものである。

本発明の化合物(I) の塩としては、製剤学的に許容される酸付加塩、例えば塩酸塩、硫酸塩等の硝酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、リンゴ酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。

化合物(I) およびその塩としては、例えば次の化合物が例示される。

・(R)-2-アミノ-3-ヒドロキシプロパンスルホン酸(D-システノール酸)

・(R)-2-アミノ-3-スルホプロパン酸(システィン酸)

・2-アミノエタンスルホン酸(タウリン)

・(R)-2-アミノ-3-メルカブトプロパノール

・(R)-2-アミノ-3-メルカブトプロパン酸(システィン)

・2-アミノエタンチオール(システアミン)

・(R)-2-アミノプロパンチオール

3

4

・ビス[(R)-2-アミノ-3-ヒドロキシプロピル]ジスルフィド

・ビス[(R)-2-アミノ-3-カルボキシエチル]ジスルフィド(シスチン)

・ビス(2-アミノエチル)ジスルフィド(シスタミン)

・ビス[(R)-2-アミノプロピル]ジスルフィド

・(R)-チアゾリジン-4-メタノール

・(R)-チアゾリジン-4-カルボン酸

・チアゾリジン

・上記化合物の塩酸塩

本発明の有効成分である化合物(I) およびその塩は実質的に公知の化合物であり、自体既知の手段によって製造される。

#### 〔作用・効果〕

本発明の有効成分である化合物(I) およびその塩は、哺乳動物(ヒト、ウマ、イヌ、マウス、ラット等) に対して優れた抗炎症作用、胃液分泌抑制作用、活性酸素産生抑制作用を有するものであり、抗炎症剤、胃液分泌抑制剤、活性酸素産生

抑制剤、特に消化器潰瘍等の治療剤として優れたものである。

本発明の有効成分は、適當かつ常用の製薬上許容されるキャリアとの医薬剤の形で経口的または非経口的に投与される。

医薬剤はカプセル剤、散剤、顆粒剤、シロップ、坐剤、注射剤等の常用の形を取りうる。

本発明の有効成分である化合物(I) およびその塩の投与量は年齢、体重および/または処置すべき病状の重度や治療に対する反応によりその投与量は変わりうるものであり、通常、例えば経口投与の場合、1~1000mgが1日1回または数回にわたって投与される。

#### 〔実験例〕

本発明に係るビス[(R)-2-アミノプロピル]ジスルフィド(Me-SS) を試料として、薬理活性およびその機作を胃液分泌(ラット幽門結紮法)、炎症(ラットカラゲニン足臍浮腫法)、ラジカル除去(キサンチン-キサンチンオキシダーゼ系チクロームc還元法) および活性酸素産生(多形核

白血球ルミノール化学発光法)について検討した。

#### 実験方法

##### 胃液分泌抑制作用:

H. Shay, S.A. Komarov, *Gastroenterology*, 5, 43 (1945) に記載の方法に準じた。即ち、48時間絶食した体重130～150gのWistar系雄性ラットの幽門部を結紮し、4時間後の貯留胃液についてその液量、総酸度および総ペプシン活性を測定した。総酸度はフェノールフクレインを指示薬とする0.02N NaOHの中和滴定で求め、また総ペプシン活性は0.6%カゼイン(Milk)を基質としてAnson法に準じて求めた。なお、比較試料としてシスタミンを用いた。試料は5%アラビアゴムに懸濁し、結紮直後に腹腔内投与した。

##### ラットカラゲニン足跡浮腫法:

C.G. Van Arman, A.J. Begany, L.M. Miller, H.H. Pless, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 150, 328 (1965); R. Vinegar, W. Schreiber, R. Hugo, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 166, 96 (1968) に記載の方法に準じた。即ち、12時間絶食した体重

120～150g SD系雄性ラットを用いた。カラゲニン(Picrin-A)は、1%生理食塩水溶液とし、この0.1mlを右後肢足蹠に注入し、同時に对照として左後肢足蹠に同量の生理食塩水を注入した。カラゲニン注入後、7時間目まで1時間ごとに左右の足の体積を測定し、その差を各時間毎に計算して浮腫率(%)として表した。なお、比較試料としてインドメタシンを用いた。試料は5%アラビアゴムに懸濁し、カラゲニン注入の1時間前に経口投与するか、30分前に腹腔内投与した。

##### 多形核白血球ルミノール化学発光法(活性酸素産生抑制作用):

M. Kudo, T. Nakamura, J. Koyama, *J. Biochem.*, 97, 1211 (1985); 中野稔、炎症、5(4), 277(1985) に記載の方法に準じた。即ち、12時間絶食した体重400～600g Hartley系雄性モルモットに体重の1/10容の2%カゼイン生理食塩水溶液を腹腔内投与し、16時間後に脱血死させ、ヘパリン含有(10U/ml) Hank's Balanced Salt Solution(HBSS)にて腹腔内を洗浄し、多形核白

血球懸濁液を得た。採取した細胞懸濁液を4°Cで1200rpm、5分間遠心して細胞を沈殿させ、0.2%生理食塩水で30秒間溶血ののち、洗浄を行い、多形核白血球懸濁液を得た。測定用キュベットに多形核白血球5×10<sup>6</sup>/ml、ルミノール20μMおよび検体を含むHBSSを入れ、37°C、2分間放置後、ホルボールミリストアセテート(PMA)およびN-ホルミルメチオニルロイシルフェニルアラニン(FMLP)を各々終濃度0.1μg/ml、0.1μMとなるよう添加し、產生する活性酸素をルミノール化学発光として、Berthold MULTI-BIOLUMAT LB9505Cを用いて測定した。なお、比較試料としてスーパーオキシドジムスター( SOD)を用いた。試料は1%DMSOに溶かして使用した。

##### キサンチンーキサンチンオキシダーゼ系チトクロムC還元法(ラジカル消去作用):

J.M. McCord, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, 244, 6049 (1969) に記載の方法に準じた。即ち、試料セルに50μMキサンチン、5μMチトクロ

ムCおよび検体を含む50mMカリウムーリン酸緩衝液-0.1mM EDTA(pH7.8)を入れ、25°C、5分間放置後、0.025Uキサンチンオキシダーゼを添加し、還元型チトクロムCの増加を550nmの吸光度の増加として測定した。なお、比較試料としてSODを用いた。検体は1%DMSOに溶かして使用した。

#### 実験結果

##### 胃液分泌抑制作用:

幽門結紮ラットの胃液分泌に対して、Me-SSは10mg/kg, i.p. で総ペプシン活性を、2.5mg/kg, i.p. で胃液量、総酸度および総ペプシン活性を有意に抑制した。なお、同時に検討したMe-SSの母核であるシスタミンは、2.5mg/kg, i.p. で無効であった(表1参照)。

##### ラットカラゲニン足跡浮腫:

カラゲニン足跡浮腫に対して、Me-SSは25mg/kg, i.p. で2～5時間目までの浮腫を有意に抑制した。また、比較対照として用いたインドメタシンは10mg/kg, p.o. で2～7時間目までの

浮腫を有意に抑制した(第1図参照)。

図中の数値は平均土標準誤差(N=8)を示す。

多形核白血球ルミノール化学発光法(活性酸素産生抑制作用)：

Me-SSは、PMAによる活性酸素産生に対して、終濃度50 μMで68%、100 μMで89%の抑制率を示し、FMLPによる活性酸素産生に対しては、終濃度50 μMで94%、100 μMで98%の抑制率を示した。また、比較対照として用いたSODは、PMAまたはFMLPによる活性酸素産生に対して、100 μg/mlで約90%の抑制率を示した(第2図、第3図参照)。

キサンチン-キサンチンオキシダーゼ系チクロムC還元法(ラジカル消去作用)：

キサンチン-キサンチンオキシダーゼ系から生じるO<sub>2</sub><sup>-</sup>に対して、Me-SSは10 μMおよび100 μMでラジカル消去作用を示さなかった(表2参照)。

(以下余白)

11

表2 キサンチン-キサンチンオキシダーゼ系チクロムC還元でのMe-SSの効果

試料	濃度	チクロムCの還元 <sup>a)</sup> (mmol/min)	抑制率 <sup>b)</sup> (%)
対照	—	4.71	—
Me-SS	100 μM	4.35	4
	10 μM	4.71	0
SOD	1 μg/ml	0.76	83
	0.1 μg/ml	2.39	47

a) 結果は2実験で得られたものを示す。

b) 抑制率は対照群でのチクロムC還元に比して算出した。

#### 結論

ビス[(R)-2-アミノプロピル]ジスルフィド(Me-SS)は、25 mg/kg, i.p.で抗炎症および抗胃液分泌作用を示した。さらにMe-SSは多形核白血球の化学発光を抑制したが、チクロムC還元

表1 幽門結紡ラットの胃液分泌に対するMe-SSの効果

試料	投与量 (mg/kg)	胃液量 (ml/100 g体重)	総酸度 (μEq/100 g体重)	総ペプシン活性 (トリアシン換算量/100 g体重)
対照	—	3.67±0.36	324.87±38.95	145.27±14.86
Me-SS	25	1.93±0.21***	176.32±24.82 **	67.77±9.66 ***
	10	2.91±0.21	296.56±30.07	95.43±10.12 *
	5	3.44±0.30	324.15±35.40	127.70±13.23
シヌミン	25	3.13±0.31	315.26±37.47	130.86±15.68

数値は平均±標準誤差(N=10)を示す。

対照群との有意差 \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\* p<0.001

12

法ではラジカル消去作用を示さなかった。従って、Me-SSの作用機作の一つとして活性酸素産生機構への抑制の関与が示唆された。

#### (実施例)

以下、実施例を以て本発明を説明するが、これらの実施例は何ら本発明を限定するものではない。

##### 実施例1：錠剤

(1)ビス[(R)-2-アミノプロピル]	10 mg
ジスルフィド	
(2)直打用微粒No.209(富士化学社製)	46.6 mg
メタケイ酸アルミニウムマグネシウム	20%
トウモロコシデンプン	30%
乳糖	50%
(3)結晶セルロース	24.0 mg
(4)カルボキシルメチル	4.0 mg
セルロース・カルシウム	
(5)ステアリン酸マグネシウム	0.4 mg
(1)、(3)および(4)はいずれも予め100メッシュの篩に通す。この(1)、(3)、(4)と(2)をそれぞれ乾燥して一定含水率にまで下げた後、上記の重量割合	

で混合機を用いて混合する。全質均等にした混合末に(5)を添加して短時間(30秒間)混合し、混合末を打綻(杵: 6.3 mm φ、6.0 mm R)して、1錠85 mgの錠剤とした。

この錠剤は必要に応じて通常用いられる胃溶性フィルムコーティング剤(例、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート)や食用性着色剤でコーティングしてもよい。

#### 実施例2: カプセル剤

(1)ビス[(R)-2-アミノプロピル]ジスルフィド	50 g
(2)乳糖	935 g
(3)ステアリン酸マグネシウム	15 g

上記成分をそれぞれ秤量した後均一に混合し、混合粉体をハードゼラチンカプセルに200 mgずつ充填した。

#### 実施例3: 注射剤

(1)ビス[(R)-2-アミノプロピル]ジスルフィド	5 mg
(2)ブドウ糖	100 mg

#### (3)生理食塩水

10 ml

上記の混合液をメンブランフィルターで濾過後、再び除菌濾過を行い、その濾過液を無菌的にバイアルに分注し、窒素ガスを充填した後、密封して静脈内注射剤とした。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は、ラットカラゲニン足蹠浮腫における本発明化合物の効果を経時的に示したグラフである。

第2図は、PMAによる多形核白血球ルミノール化学発光に対する本発明化合物の効果を経時的に示したグラフである。

第3図は、FMLPによる多形核白血球ルミノール化学発光に対する本発明化合物の効果を経時的に示したグラフである。

特許出願人 株式会社 ミドリ十字

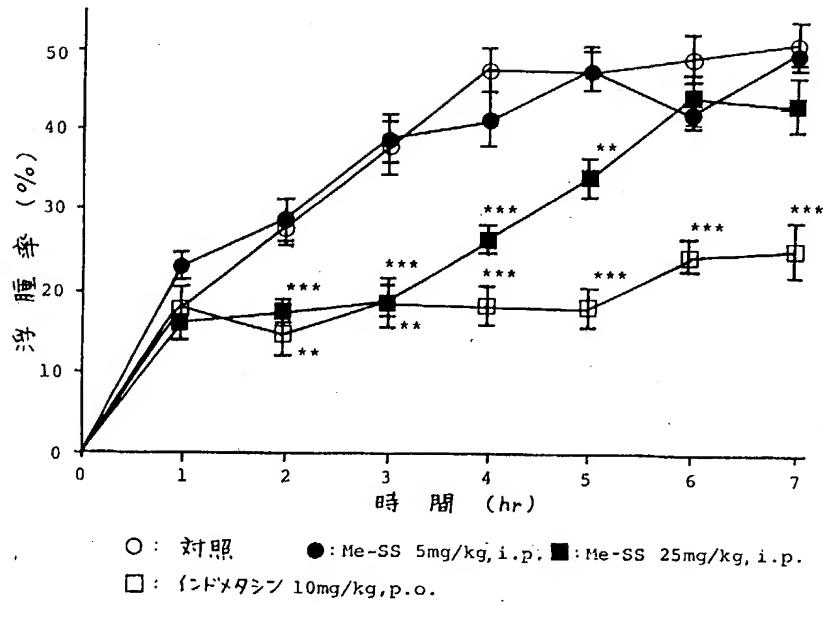
代理人 弁理士 高島 一



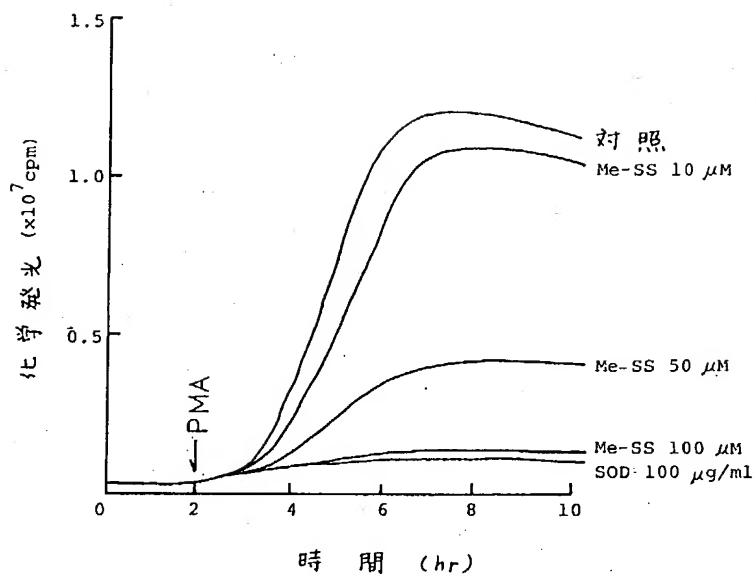
15

16

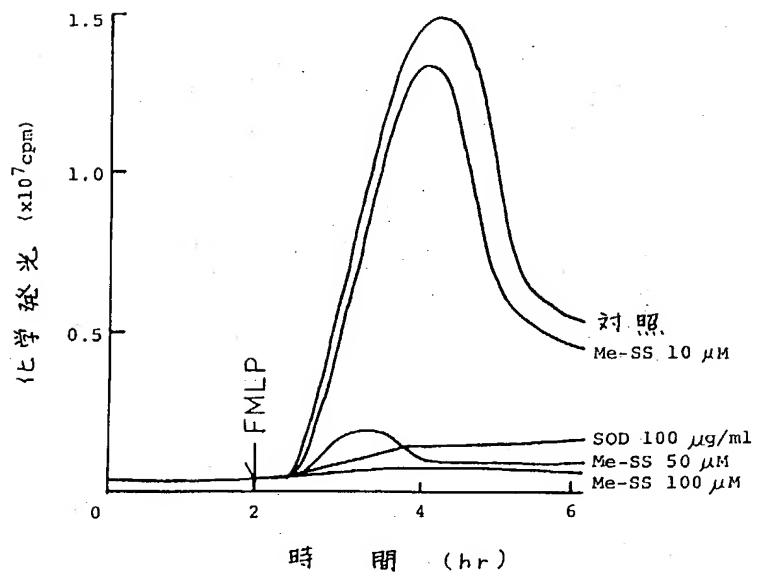
第1図



第2図



第3図



手続補正書 (自発)

平成1年12月7日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成1年特許願第256539号

2. 発明の名称

抗炎症剤、胃液分泌抑制剤または活性酸素

產生抑制剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

氏名(名称) 株式会社ミドリ十字

4. 代理人 ⑧541

住所 大阪市中央区平野町三丁目3番9号

(湯木ビル)

伝. (06) 227-1156

高島国際特許事務所

氏名 弁理士 (8079) 高島



5. 補正の対象

明細書の「発明の詳細並びにその欄

方  
式  
書

1 7.12.8

(別紙) 表1 幽門結素ラットの胃液分泌に対するMe-SSの効果

試料	投与量 (mg/kg)	胃液量 (ml/100g体重)	總酸度 ( $\mu$ Eq/100g体重)	絶ベプシン活性 (トリプシン活性度/100g体重)	
				対照	Me-SS
	-	3.67 ± 0.36	324.87 ± 38.95	145.21 ± 14.86	67.77 ± 9.66 ***
Me-SS	25	1.93 ± 0.21 ***	176.32 ± 24.82 **		
	10	2.91 ± 0.21	296.56 ± 30.07	95.43 ± 10.12	
	5	3.44 ± 0.30	324.15 ± 35.40	127.70 ± 13.23	

数値は平均士標準誤差(N=10)を示す。

対照群との有意差 \*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, \*\*\* p&lt;0.001